MANUAL DE INSTRUCCIONES

REDIAR®

Albúmina Sérica Bovina (Solución al 22%)
Para ser usada en pruebas de compatibilidad y de detección, identificación y titulación de anticuerpos.

Para uso diagnóstico in vitro

RESUMEN

En 1945, Cameron y Diamond observaron que algunos sueros anti-D que no aglutinaban a los eritrocitos suspendidos en salina si aglutinaban a los eritrocitos suspendidos en albúmina humana. Esta observación se aplicó en el uso de la albúmina bovina como potenciador de las reacciones con anticuerpos en pruebas de compatibilidad, screening de anticuerpos, identificación de anticuerpos y titulación de anticuerpos.

PRINCIPIO

Los anticuerpos incompletos tienen la habilidad de combinarse con su antígeno específico en la primera fase de la aglutinación pero sin producir aglutinación visible sin el uso de técnicas especiales. El agregado de albúmina bovina a la suspensión celular permite a algunos de estos anticuerpos completar la segunda fase de aglutinación. También se sabe que la albúmina aumenta la sensibilidad de la prueba antiglobulínica indirecta para algunas especies de anticuerpos.

REACTIVO

La albúmina bovina al 22% de Diagnostics Scotland está preparada con seroalbúmina bovina. Este reactivo no contiene Caprilato de sodio. Se le ha agregado azida sódica al 0,1% final como conservador. Este reactivo deberá utilizarse tal como se ha provisto por los métodos descriptos.
Para uso diagnóstico in vitro. Conservar a 2-8°C cuando no esté en uso. Una turbidez marcada puede indicar contaminación bacteriana o deterioro del reactivo. No utilizar luego de su vencimiento.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Obtener sangre por una técnica aséptica. Se debe utilizar suero o plasma fresco para las pruebas de compatibilidad o los procedimientos de detección de anticuerpos. Si la prueba se demorara, la muestra se conservará a 2-8°C o se separará el suero o plasma de las células y se lo congelará. Los eritrocitos a emplear en la prueba podrán ser glóbulos rojos reactivos comerciales, muestras obtenidas con anticoagulante o muestras coaguladas.

PROCEDIMIENTO

Materiales Provistos: Albúmina Sérica Bovina al 22%
Materiales Adicionales Requeridos: Tubos de ensayo (12x75 mm o 10 x 75 mm), salina isotónica, pipetas, incubador o baño termostatizado a 37°C, ayuda óptica, centrífuga, timer, pipetas serológicas de 0,2 ml (para titulación), glóbulos rojos reactivos, anti-globulina humana y células sensibilizadas con IgG.

Procedimiento para la detección, identificación de anticuerpos o pruebas de compatibilidad:

1. Colocar dos gotas de suero o plasma en un tubo de ensayo limpio e identificado.
2. Agregar una gota de suspensión de células al 3-5% de donante o de glóbulos rojos reactivos. Mezclar bien los contenidos del tubo.
3. Centrifugar a 3400 rpm (900-1000 rcf) por 15-30 segundos. Examinar el sobrenadante para buscar hemólisis; resuspender el botón celular por agitación suave y examinar inmediatamente si hay aglutinación. Registrar los resultados.
4. Agregar dos gotas de Albúmina Sérica Bovina al 22%. Mezclar. Si se desea, centrifugar a 3400 rpm (900-1000 rcf) por 30 segundos y leer si hay aglutinación antes de la incubación. Incubar a 37°C por 15-60 minutos.
5. Centrifugar inmediatamente por 30 segundos a 3400 rpm (900-1000 rcf). Examinar el sobrenadante para buscar hemólisis, agitar suavemente para resuspender el botón celular y examinar la aglutinación. Registrar los resultados.
6. Lavar exhaustivamente 3-4 veces con salina isotónica, cuidando de decantar la salina completamente luego de cada lavado.
7. Agregar una o dos gotas de antiglobulina humana según las indicaciones del fabricante. Mezclar bien. Centrifugar a 3400 rpm (900-1000 rcf) por 15-20 segundos. Resuspender las células y examinar inmediatamente la aglutinación. Las reacciones negativas pueden examinarse con una ayuda óptica.
8. Confirmar la validez de las reacciones negativas con células sensibilizadas con IgG, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Resultados: La hemólisis o aglutinación representan una prueba positiva e indican la presencia de una reacción antígeno-anticuerpo. Los resultados negativos deben verificarse por el agregado de células sensibilizadas con IgG. Si las células sensibilizadas no son aglutinadas, las pruebas deben ser consideradas inválidas y el test deberá ser repetido.

Procedimiento para la titulación de anticuerpos:

1. Rotular 10 tubos de ensayo del 1 al 10.
2. Agregar 0,1 ml de una solución 6% de albúmina bovina a los tubos 2 a 10.
3. Agregar 0,1 ml del suero a ensayar en los tubos 1 y 2. Mezclar bien los contenidos del tubo 2.
4. Con una pipeta limpia, transferir 0,1 ml del tubo 2 al tubo 3. Mezclar bien los contenidos del tubo 3. Continuar con el mismo procedimiento para los tubos 4 al remover 0,1 ml del tubo 10 y reservar para futuras diluciones, en caso de ser necesario.
5. Agregar 0,1 ml de una suspensión al 2% de glóbulos rojos lavados y suspendidos en albúmina bovina al 22% a los tubos 1 al 10.
6. Mezclar bien. Incubar a 37°C por 15-60 minutos.
7. Centrifugar cada tubo a 3400 rpm (900-1000 rcf) por 30 segundos. Resuspender suavemente las células y examinar la aglutinación. Registrar los resultados.
8. Se puede realizar una prueba antiglobulínica en aquellas células que presenten reacciones débiles o negativas.

Resultados: El título será la reciproca de la mayor dilución del suero capaz de dar una aglutinación de 1+ o mayor.

LIMITACIONES

La albúmina bovina no potencia la reactividad de todos los anticuerpos IgG. Los resultados falso positivos o falso negativos pueden ser causados por el uso de una técnica incorrecta o materiales contaminados. La albúmina bovina no debe ser utilizada como un control negativo para antisueros de alto contenido proteico, como Anti-D para el uso en lámina o test rápido en tubo.

Características Específicas de Desempeño:
Albúmina Sérica Bovina 22% ha demostrado potenciar la aglutinación del Rh y otros anticuerpos cuando se utiliza según los métodos descriptos. Cada lote es probado para asegurar su especificidad cuando se los prueba contra anticuerpos dirigidos contra los antígenos de grupo más frecuentemente heredados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cameron JW and Diamond LK Chemical Clinical and Immunological Studies on the Products of Human Plasma Fractionation: Serum Albumin as a Diluent for Rh Typing Reagents. J. Clin. Invest. 1945; 24:793.
2.Widmann FK Ed. Technical Manual 9th Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 1985:204.
3.Steane EA, Red Blood Cell Agglutination: A Current Prspective in: Seminar on Antigen-Antibody Reactions Revisited. Washington DC: American Association of Blood Banks 1982:67.
4.Case J. Potentiators of agglutination in: Antigen-antibody reactions revisited. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1982:124.



ELABORADO POR: Diagnostics Scotland, Ellens Glen Road Edinburgh, EH 17 7QT, Escocia
IMPORTADO Y FRACCIONADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811, (C1427EBF) Ciudad Aut. de Bs. As. Argentina. Dir. Técnico: Roque Luis Espinosa. **Consultas Técnicas:** laboratorio@felsan.com.ar

PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA. Certificado Nº 4880. Disposición Nº 3882